



TITLE:

自由1 遺伝子導入マテリアルの安全性について(VI 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

恵美, 宣彦

CITATION:

恵美, 宣彦. 自由1 遺伝子導入マテリアルの安全性について(VI 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 2002, 32: 99-99

ISSUE DATE:

2002-08-27

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/165762>

RIGHT:

齋藤慈子・長谷川寿一（東京大・総合文化）

新世界ザルでは2色型色覚と3色型色覚が同種内に混在している。各色覚の有利性の有無を、フサオマキザル（*Cebus apella*）（3色型：n=1；2色型 n=3）を対象として、WGTAを用いた弁別課題をおこなうことによって検証した。

実験1では、3色型色覚の有利性を確認するため、石原色盲検査票を模して作成した刺激を用いた。サルの課題は、緑の背景の中に赤い丸印のある刺激と、緑のみの刺激を弁別することであった。3色型色覚の個体は有意に弁別できたが、2色型色覚の個体は弁別できなかった。つまり、この課題において3色型色覚の個体は2色型色覚よりも有利であったといえ、3色型色覚の有利性が示唆された。

実験2では、2色型色覚の有利性の有無を検証するため、カラーカモフラージュされた「きめ」の異なる領域を検出する課題をおこなった。その結果、色覚の違いによる弁別能力の違いはみられず、2色型の有利性を支持する結果は得られなかった。しかし刺激や提示方法に問題点があったという可能性もあるため、この結果だけから、2色型は有利性をもたないとは言いきれないであろう。

(2) 自由研究

自由1 遺伝子導入マテリアルの安全性について

恵美宣彦（名古屋大・医）

目的：遺伝子治療・遺伝子ワクチンにおいて目的遺伝子を生体導入するための delivery system は極めて重要な要素で、遺伝子の導入担体・ベクターや導入方法の開発と共に、それらの有効性、安全性を検証するための評価実験系の確立も必須である。こうした視点から、サルモデルを用いた評価実験系に関する研究を進めている。

昨年度評価実験系までの研究では、非ウイルス性の遺伝子導入担体（以後、ベクター）として、カチオニックリポソームを用いてきた。今回、こうしたリポソームベクターよりも少量の遺伝子・DNA 量の導入で効果が期待される、遺伝子銃（gene gun）を用いて、ニホンザルにマーカー遺伝子・GFP（オワンクラゲ由来の green fluorescence protein）導入を試み、その遺伝子導入効率と安全性を検討した。

研究計画・方法：遺伝子銃としては、海外で遺伝子治療用として一部利用されている gene gun（ヘリオス社製）を用いた。発現ベクター・pC-EGFP plasmid を金粒子と混和し、その混和物を 300 psi の純正アルゴン加圧下（ラットでの予備実験知見を参考にして；この圧を設

定）で、ニホンザル背部にリポソームベクターの 1/10 量の 5 マイクログラム/頭を皮内投与した。なお、比較実験のカチオニックリポソームでの遺伝子導入はこれまでの条件で実施した。

結果・考察：投与（遺伝子導入）後の血中 GFP DNA（PCR 法）は、いずれの時間（～48 時間）においても、PCR 法で検出限界以下であった。また、投与部位皮膚組織での GFP タンパク質発現性を、抗 GFP 抗体を用いて免疫組織化学的に精査したが、リポソームベクターの際に観察された、dendritic cells, macrophages および endothelial cells 等でのポジティブシグナルは認められなかった。さらに、炎症性サイトカインの TNF- α ならびに末梢血血球像の変化など炎症応答を指標にした安全性も検討した。TNF- α の産生や好中球増大などは見られず、炎症反応や投与部位の細胞・組織障害も認められず、安全性に関しては問題無いことが示された。

以上の結果から、サルモデルにおいては 遺伝子銃（gene gun）での GFP 遺伝子導入法はリポソームベクターに比べ、遺伝子導入効率および遺伝子産物（タンパク質）発現効率とも低く、今後の課題として投与条件（300 psi）等の検討の必要性が示された。

自由2 サルの G タンパク質共役受容体の研究

武田茂樹（群馬大・工・生物化学工学）

我々はヒトのゲノム情報から新規 G タンパク質共役受容体遺伝子を予想し、それらのクローニングを行った。その機能の解明およびヒトとサルの生体内情報伝達の違いを明らかにする一環として、今回サルの脳の各部位および嗅上皮から mRNA を摘出し、RT-PCR によって各種 G タンパク質共役受容体遺伝子の発現状況を調べてヒトとの比較を試みた。霊長類研究所では実験殺後速やかに脳や嗅上皮を採取することができたため、良質の RNA 画分が調製できた。しかしヒトの遺伝子配列を基に設計した RT-PCR 用プライマーはあまり効率よくサルの遺伝子を増幅することができず、ヒトとサルの遺伝子配列はそれほど高い一致を示さないことを示唆した。これらのプライマーの多くはヒトの遺伝子を増幅する時と比べ、アニーリング温度を 5℃前後下げることによってサルの遺伝子を増幅することができ、我々が新規に同定した G タンパク質共役受容体遺伝子ではヒトとサルでは発現状況に大きな違いは見られなかった。現在、げっ歯類のフェロモン受容体と相同性が見られる受容体遺伝子および我々が新たにリガンドを同定した新規受容体遺伝子について、サルのホモログ遺伝子をクローニングするためのライブラリーを構築している。